

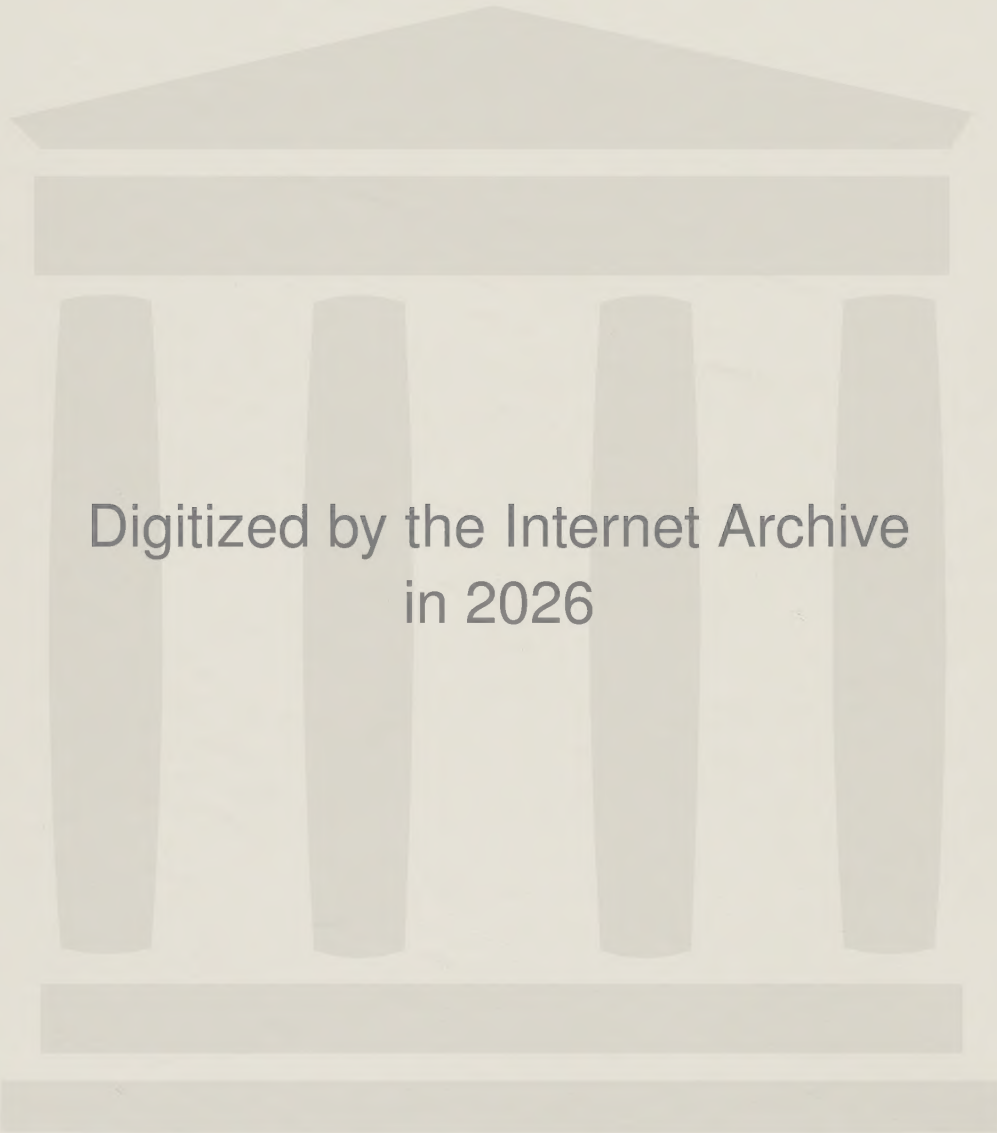
ZELLULÄRE GRUNDLAGEN DER PIGMENTBEWEGUNG
IN DEN MELANOPHOREN DES SEGELFLOSSERS,
PTEROPHYLLUM SCALARE CUV. & VAL. (PISCES, CICHLIDAE)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
vorgelegt im Fachbereich Biologie
der
Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

von
Manfred Schliwa
aus
Kulmbach

Frankfurt am Main 1975

Mit Genehmigung des Fachbereichs Biologie zum Druck gekürzt



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550826_0051

Dekan: Prof. Dr. F.W. Pons

1. Gutachter: Prof. Dr. J. Bereiter-Hahn

2. Gutachter: Prof. Dr. K. Fiedler

Tag der mündlichen Prüfung: 25. 8. 1975

Tag der Promotion: 25. 8. 1975

Melanophoren isolierter Schuppen des Segelflossers, *Pterophyllum scalare*, werden licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Im Vordergrund der experimentellen Arbeiten stehen morphometrische Untersuchungen an aggregierten und dispergierten Melanophoren, Experimente mit Colchicin, Vinblastin und cyclischem Adenosin-Monophosphat (cAMP) zur Klärung der Bedeutung der Mikrotubuli, sowie Versuche zum Nachweis eines kontraktile Systems. Im einzelnen wurden folgende Ergebnisse gewonnen:

1. Melanophoren mit aggregiertem oder dispergiertem Pigment zeigen große Unterschiede der Zellform sowie der Anzahl und Verteilung der Mikrotubuli. Im Zustand ausgebreiteten Pigmentes sind die sternförmig um das Zellzentrum angeordneten Zellausläufer etwa oval im Querschnitt und über ihre Längenausdehnung von einheitlicher Dicke, sodaß die Melanophore die Gestalt einer flachen Scheibe erhält. Die Mikrotubuli sind vorwiegend in der corticalen Zone der Zellausläufer angeordnet und erstrecken sich parallel zur Längsachse der Dendriten. Im Zustand konzentrierten Pigmentes nimmt das Zellzentrum die Gestalt einer melanosomen-erfüllten Kugel an, während die Zellausläufer kollabiert erscheinen. Die Anzahl der Mikrotubuli nimmt erheblich ab; die corticale Anordnung weicht einer eher gleichmäßigen Verteilung über die Querschnittsfläche eines Dendriten.

2. Die Alkaloide Colchicin und Vinblastin verursachen eine konzentrations- und zeitabhängige Hemmung der Pigmentverlagerung, die im Falle des Colchicins partiell reversibel, im Falle des Vinblastin jedoch irreversibel ist. Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen findet unter dem Einfluß von Colchicin keine wesentliche Verminderung der Anzahl der Mikrotubuli statt, sodaß die Wirkung dieses Alkaloids auf einer Beeinflussung der Bewegungssteuerung beruhen dürfte. Im Gegensatz dazu ist bei der Applikation von Vinblastin die Hemmung der Pigmentbewegung mit einer nahezu vollständigen Auflösung der Mikrotubuli verknüpft.
3. Bei Anwendung in einer Konzentration von 10 mM ist cAMP in der Lage, dem inhibitorischen Einfluß von Vinblastin auf die Pigmentdispersion entgegenzuwirken. Quantitative licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen lassen den Schluß zu, daß cAMP die Polymerisationsrate der Mikrotubuli bei der Pigmentdispersion fördert.
4. Wird auf aggregierte Melanophoren mittels einer neu entwickelten Mikro-Druck-Einrichtung ein schrittweise anwachsender Druck ausgeübt (aufgewendete Kraft: 50-320 μ p), so verlagern sie ihr Pigment graduell in die Zellausläufer und kehren bei Aufhebung des Druckes langsam in den aggregierten Zustand zurück. Der Grad der "erzwungenen Dispersion" kann durch Veränderung der Zusammensetzung

des externen Mediums verändert werden: Nach Zerstörung der Mikrotubuli mit 0,3 mM Vinblastin zeigt die Druck-induzierte Dispersion in KCl-Lösung zunächst keine signifikanten Unterschiede zu unbehandelten Kontrollzellen. Unter dem dispergierenden Stimulus von NaCl-Lösung (in der bei Vinblastin-behandelten Melanophoren das Pigment nahezu konzentriert bleibt) sind jedoch signifikant geringere Kräfte erforderlich, um einen den Melanophoren in KCl-Lösung vergleichbaren Dispersionsgrad zu erzielen. In ähnlicher Weise bewirkt Entzug von Calciumionen mittels EDTA oder EGTA eine erleichterung der Dispersion. Die mit dieser Methode gewonnenen Ergebnisse lassen auf eine "kontraktile Komponente" schließen, die bei aggregierendem Stimulus kontrahiert und bei dispergierendem Stimulus erschlafft.

5. In Experimenten mit dem Calcium-Ionophor A23187 wird innerhalb eines Zeitraumes von 30 Minuten eine Verminderung der Dispersionsgeschwindigkeit und eine geringfügige Beschleunigung der Aggregationsgeschwindigkeit beobachtet. Der Effekt ist konzentrations- und zeitabhängig. Werden Melanophoren in Ringerlösung mit 10 µg/ml A23187 belassen, so beginnt nach 10-20 Minuten eine langsame Aggregation des Pigmentes bis zur vollständigen Konzentration in der Zellmitte.

Bei der Pigmentbewegung scheinen demnach folgende Vorgänge korreliert zu sein: Pigmentaggregation, Abbau der Mikrotubuli

und Kontraktion der kontraktile Komponente sowie umgekehrt Pigmentdispersion, Aufbau der Mikrotubuli und Relaxation der kontraktile Komponente. Die dabei ablaufenden Prozesse können modellhaft folgendermaßen zusammengefaßt werden (Abb. 1):

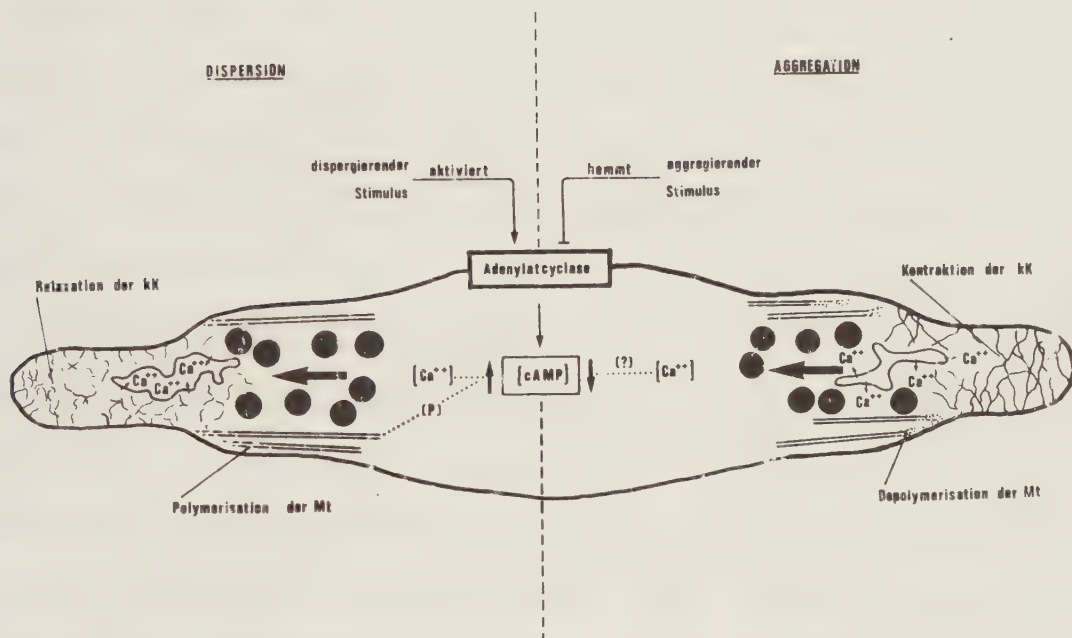


Abb. 1. Schematische Darstellung der bei der Pigmentaggregation und Pigmentdispersion ablaufenden Prozesse. Abkürzungen: kK - kontraktile Komponente, Mt - Mikrotubuli, P - Proteinkinase. Besprechung im Text.

Ein externer aggregierender Stimulus (z.B. Kalium-Ionen oder Adrenalin) verursacht eine Adenylatcyclase-abhängige Verminderung der intrazellulären Konzentration von cAMP und eine Erhöhung der Konzentration von Calcium-Ionen im Plasma

durch Freisetzung aus intrazellulären Speicherstätten. Die Freisetzung von Calcium-Ionen bewirkt gleichzeitig einen peripher beginnenden Abbau der Mikrotubuli und eine Kontraktion der kontraktilen Komponente. Sofern die kontraktile Komponente vorwiegend in den Dendriten lokalisiert ist, werden die Melanosomen im Sinne eines Druckflußmechanismus zur Zellmitte hin verschoben. Mit dieser Vorstellung stehen die lichtmikroskopischen Beobachtungen weitgehend im Einklang, obwohl bei der Massenbewegung zurückbleibende Melanosomen auch später noch zur Zellmitte transportiert werden können. Möglicherweise spielen die bei aggregiertem Pigment persistierenden Mikrotubuli dabei eine Rolle, indem sie Transportkanäle offenhalten können.

Werden die Mikrotubuli z.B. mit Vinblastin zerstört, so unterbleibt die Pigmentaggregation. Die Kontraktion der kontraktilen Komponente alleine ist also nicht oder nur in sehr geringem Maße in der Lage, das Pigment zu aggregieren. Diese Beobachtung führt zu der einfachen Modellvorstellung, daß die Bewegungsrichtung durch die Richtung des Abbaues der Mikrotubuli gegeben wird. Die Kontraktion könnte über die gesamte Länge eines Dendriten stattfinden, würde aber nur an Stellen des Mikrotubuli-Abbaues wirksam werden. Die Mikrotubuli stellten also versteifende Elemente und in diesem Sinne ein echtes Cytoskelett dar. Auf Grund der charakteristischen Abplattung kollabierter Zellausläufer ist weiterhin eine Anordnung der kontraktilen Elemente vorwiegend in vertikaler Richtung anzunehmen.

Auch bei der Pigmentdispersion ist die Relaxation der kontraktilen Komponente - jedenfalls in dem hier beobachteten Ausmaß - nicht in der Lage, eine Dispersion des Pigmentes zu bewirken. Ein zusätzlicher Faktor ist nötig, nämlich die gerichtete Repolymerisation der Mikrotubuli und damit der Aufbau des Cytoskeletts. Bei diesen Vorgängen dürften wiederum die Konzentrationen von cAMP und Calcium-Ionen eine auslösende Rolle spielen: Die Erhöhung des cAMP-Spiegels bewirkt (1.) entweder direkt oder über die Aktivierung einer cAMP-abhängigen Proteinkinase eine Steigerung der Calcium-Aufnahme des endoplasmatischen Retikulums und (2.) eine Repolymerisation der Mikrotubuli. Relaxation der kontraktilen Komponente und Aufbau des Cytoskeletts wären Folgen dieser Prozesse. Möglicherweise unterstützen elastische Eigenschaften des zentralen Plasmabezirks der Melanophoren das Ausweichen des Pigmentes in die Zellausläufer.

L E B E N S L A U F

Am 6. 12. 1945 wurde ich als Sohn des damaligen Polizei-Hauptwachtmeisters Paul Schliwa und seiner Frau Gertrud in Kulmbach am Main geboren. Im Anschluß an unsere Übersiedlung nach Frankfurt am Main im Jahre 1949 besuchte ich zunächst die Willemer-Volksschule und von 1956 bis 1965 das Freiherr-vom-Stein-Gymnasium zu Frankfurt am Main, an dem ich 1965 mein Abitur ablegte. Nach Ableistung meines Wehrdienstes immatrikulierte ich mich zum Wintersemester 1966/67 an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität zunächst für das Studium der Rechtswissenschaften und nahm nach Studienfachwechsel im Wintersemester 1967/68 das Studium der Biologie auf. Im Jahre 1972 legte ich die Diplomprüfung in den Fächern Zoologie, Anthropologie und Paläontologie ab und verfaßte eine Diplomarbeit über das Thema "Die Bedeutung von Mikrotubuli und Mikrofilamenten für die Pigmentbewegung in Fisch-Melanophoren". Die Promotionsarbeit, die ich 1973 in der Arbeitsgruppe Kinematische Zellforschung unter der Anleitung von Prof. Dr. J. Bereiter-Hahn begann, stellt eine Fortführung der Thematik der Diplomarbeit dar.

Frankfurt am Main, 29. 5. 1975

Meine akademischen Lehrer waren folgende Herren Professoren und Dozenten:

Bereiter-Hahn, Brändle, Burkhardt, Dänzer, Doiwa, Egle, Fasold, Fiedler, Hanke, Hilgenberg, Hölldobler, Hohorst, Jander, Kaplan, Kohlenbach, Kramp, Kuhl, H. Lange, V. Lange, Lindauer, Lötschert, Martienssen, Martini, Maschwitz, Merkel, Murawski, Queisser, P. Rietschel, S. Rietschel, Rosenstock, Schäfer, Schaub, Starck, Vogel, Wiltschko, Winter, Ziegler.

